

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN DAN AKAR
BELUNTAS (*Pluchea indica* (L.)) TERHADAP SEL
KANKER KOLON WiDr**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada
Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

WANUDYA ATMAJANI

K 100 150 049

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN DAN AKAR
BELUNTAS (*Pluchea indica* (L.)) TERHADAP SEL
KANKER KOLON WiDr**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

WANUDYA ATMAJANI

K 100 150 049

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



MARYATI, Ph.D., Apt.

NIK.871

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN DAN AKAR
BELUNTAS (*Pluchea indica* (L.)) TERHADAP SEL
KANKER KOLON WiDr**

OLEH

WANUDYA ATMAJANI

K 100 150 049

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Senin, 28 Januari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Peni Indrayudha, Ph.D., Apt.
(Ketua Dewan Penguji)
2. Wahyu Utami, Ph.D., Apt.
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Maryati, Ph.D., Apt.
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

NIK. 956

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 11 Januari 2019

Penulis



WANUDYA ATMAJANI

K 100 150 049

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN DAN AKAR
BELUNTAS (*Pluchea indica* (L.)) TERHADAP SEL
KANKER KOLON WiDr**

Abstrak

Dewasa ini penemuan agen-agen sitotoksik dari bahan alam terus dikembangkan. Hal ini dilakukan sebagai upaya untuk menekan angka kematian karena kanker dan mengurangi efek samping yang ditimbulkan oleh terapi kanker yang digunakan saat ini. Daun dan akar beluntas (*Pluchea indica* (L.)), merupakan tanaman berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen sitotoksik. Daun beluntas memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan akarnya bersifat aktivitas antikanker terhadap sel kanker otak dan sel kanker nasofaring. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun dan akar beluntas terhadap sel kanker kolon WiDr serta mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya. Ekstraksi daun dan akar beluntas menggunakan metode maserasi dengan penyari alkohol 96%. Ekstrak etanol daun dan akar beluntas diuji efek sitotoksitas pada sel WiDr dengan menggunakan metode MTT assay. Identifikasi golongan senyawa menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan akar beluntas memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel WiDr, dengan nilai IC_{50} berturut-turut 339,84 $\mu\text{g/mL}$ dan 191,42 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas mengandung senyawa alkaloid dan tanin sedangkan akar beluntas mengandung senyawa flavonoid.

Kata Kunci: *Pluchea indica* (L.), sitotoksik, WiDr.

Abstract

Nowadays, the discovery of cytotoxic agents from natural materials continues to be developed. This is done as an effort to reduce the mortality rate due to cancer and reduce the side effects caused by the treatment of cancer currently in use. Beluntas leaves and roots (*Pluchea indica* (L.)), are potential plants to be developed as cytotoxic agents. Previous research has stated beluntas leaves have cytotoxic activity against HeLa cells and beluntas root has anticancer activity against brain cancer cells and nasopharyngeal cancer cells. This study aims to determine the cytotoxic effects of ethanol extract of beluntas leaves and roots on WiDr colon cancer cells and find out the class of compounds contained therein. Extraction of beluntas leaves and roots using maceration method with 96% alcohol dancer. Ethanol extract of beluntas leaves and roots was tested for cytotoxicity effects on WiDr cells using the MTT assay method and identification of compounds contained by thin layer chromatography (TLC) methods. The results showed that the ethanol extract of beluntas leaves and roots had a weak cytotoxic effect on WiDr cells, with IC_{50} values 339.84 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and 191.42 $\mu\text{g} / \text{mL}$ respectively. The TLC test results showed that the ethanol extract of beluntas leaves contained alkaloid and tannin compounds while the roots of beluntas contained flavonoid compounds.

Keywords: *Pluchea indica* (L.), cytotoxic, WiDr

1. PENDAHULUAN

Kanker menjadi penyebab kematian nomor dua di seluruh dunia. Sebanyak 8,8 juta orang di seluruh dunia meninggal karena kanker. Terdapat 774.000 kematian disebabkan oleh kanker kolorektal dari 8,8 juta kematian akibat kanker (WHO, 2018). Menurut data Global Cancer Observatory (2018), persentase kasus baru kanker kolon di Indonesia adalah 5,02% dengan jumlah kasus baru sebesar 15.245 kasus, dan persentase mortalitas sebesar 5,17% dari seluruh kasus kanker.

Kanker kolorektal merupakan malignan neoplasme yang melibatkan kolon, rektum, dan kanal anal. Pengobatan kanker kolon umumnya dilakukan dengan pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi. Cara pengobatan tersebut memiliki efek samping seperti pembengkakan, luka, infeksi, kehilangan darah, serangan jantung, mual-muntah, kehilangan nafsu makan, rambut rontok, mulut luka, dan diare (NCCN, 2016). Sebab pengobatan kanker memiliki efek samping yang tidak menyenangkan maka perlu dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai agen antikanker yang efektif, memiliki target spesifik, dan memiliki efek samping yang rendah. Bahan alam dipilih karena memiliki metabolit sekunder yang menjadi sumber molekul obat, karena metabolit sekunder memiliki aktivitas farmakologi dan biologi. (Saifudin, 2014). Salah satu bahan alam yang diteliti sebagai kandidat agen antikanker adalah daun dan akar beluntas.

Beluntas (*Pluchea indica* (L.)) Less merupakan tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan tradisional di Indonesia. Daun beluntas digunakan sebagai penambah nafsu makan, peluruh keringat, antipiretik, antibakteri, antidiare, antitusif, dan *emollient*. Beluntas juga memiliki khasiat antioksidan, antinyeri, antituberkulosis, dan aktivitas antikanker (Suriyaphan, 2014). Terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan aktivitas antikanker dari daun dan akar beluntas. Fraksi heksana dari akar beluntas mampu menekan proliferasi dari sel kanker otak dengan menginduksi penahanan siklus sel dan autofagi (Cho *et al.*, 2017). Ekstrak etanol dari akar beluntas memiliki aktivitas antikanker yang kuat melawan NPC (*human nasopharyngeal carcinoma cells*) secara *in vitro* (Kao *et al.*, 2015). Ekstrak n-heksana, diklorometana, dan metanol dari daun beluntas memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial terhadap sel kanker leher rahim (sel HeLa) dengan IC_{50} berturut-turut sebesar 18,06; 74,56 dan 31,31 $\mu\text{g/ml}$ (Puspitasari *et al.*, 2015). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel T47D, dengan IC_{50} 727,3 $\mu\text{g/mL}$ (Widyaratna, 2016). Menurut Suriyaphan (2014), di dalam daun dan akar beluntas terdapat senyawa flavonoid, yaitu kuersetin, mirisetin, dan kaemferol. Senyawa kuersetin memiliki aktivitas antikanker pada kanker kolon dengan variasi sel kanker kolon Caco-2, HT-29, IEC-6, HCT-15 (Ren *et al.*, 2003). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun dan akar beluntas terhadap sel kanker kolon WiDr.

2. METODE

2.1 Alat

Peralatan yang diperlukan untuk melakukan penelitian ini antara lain, bejana maserasi, corong Buchner, *rotary evaporator*, penangas air, neraca analitik, pipet steril, botol Duran, Laminar Air Flow, mikroskop, hemositomer, vorteks, *conical tube*, inkubator, lampu UV, *ELISA Reader*, Microplate 96-well.

2.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun dan akar beluntas, sel WiDr, etanol 96%, reagen MTT [3-(4,5- dimetilthiazol- 2- il)-2,5- difeniltetrazolium bromida], *stopper reagent* (SDS 10% dalam HCl 0,01 N), medium Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, Fetal Bovine Serum (FBS), Penicillin-Streptomycin, Tripsin-EDTA, Phosphate buffer Saline (PBS), DMSO (dimetil sulfoksida), *silica gel GF254 plate*, aluminium foil, tabung mikro.

2.3 Jalannya Penelitian

2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi daun dan akar beluntas menggunakan metode maserasi dengan penyari etanol 96%. Daun dan akar beluntas yang telah kering dihaluskan ditimbang berat keringnya. Perbandingan antara daun dan akar beluntas dan etanol 96% adalah 1:7,5. Ditimbang 50 gram daun dan akar beluntas kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 375 mL, rendaman tersebut dibiarkan selama tiga hari. Hasil rendaman disaring dengan *vacuum* Buchner dan dikentalkan dengan *rotary evaporator* suhu 60°C, kemudian dilanjutkan dengan penangas air sampai masa mengental sesuai yang dikehendaki. Ekstrak kental dilarutkan dalam DMSO untuk pengujian sitotoksik.

2.3.2 Uji Sitotoksik

Metode yang digunakan dalam uji sitotoksik adalah MTT Assay. Sel kanker WiDr ditumbuhkan pada media RPMI yang mengandung FBS 10% v/v, Penisilin-Streptomisin 1% v/v, dan Fungizon 0,05% v/v kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan kelembaban atmosfer 5% CO₂. Panen sel dilakukan ketika sel telah 80% konfluen.

Sel diambil dari inkubator kemudian media dibuang dengan pipet pasteur steril. Sel dicuci dengan FBS sebanyak 5 mL lalu dihomogenkan dan FBS dibuang. Ditambahkan tripsin-EDTA (tripsin 0,25%) sebanyak 450 µL kemudian diinkubasi di inkubator CO₂ 5% selama 5 menit. Ditambahkan 6 mL media RPMI, kemudian sel diresuspensi sampai sel terlepas satu per satu atau tidak menggerombol. Sel yang sudah tidak menggerombol ditransfer ke dalam *conical tube* steril. Setelah pemanenan sel, diambil 10 µL dan dimasukkan hemositometer kemudian dilakukan

perhitungan sel menggunakan hemasitometer di bawah mikroskop. Sel yang akan diberi perlakuan dipindah ke *conical tube* steril kemudian ditambahkan media RPMI sebanyak 10 mL. Suspensi sel WiDr dalam media RPMI, dimasukkan ke dalam *microplate 96-well*, masing-masing sebanyak 100 mikroliter (kepadatan sel 10^4 sel/sumuran) dan sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% sampai sel 80% konfluen. Setelah sel 80% konfluen, dilakukan pemberian ekstrak terhadap sel kanker.

Dibuat seri konsentrasi daun dan akar beluntas dengan pengenceran stok dalam DMSO menggunakan media RPMI sebanyak 1 mL, seri konsentrasi yang dibuat adalah 31,25, 62,5, 125, 250, dan 500 µg/mL. Masing-masing seri konsentrasi dimasukkan ke dalam *microplate 96-well* yang telah berisi sel, sebanyak 100 µL kemudian diinkubasi di dalam inkubator CO₂ 5% selama 48 jam.

Reagen MTT 0,5 mg/mL dibuat dengan mengencerkan 1 mL stok MTT dalam PBS 5 mg/mL, media RPMI ditambahkan sampai 10 mL. Sel hasil inkubasi diambil dari inkubator lalu dipisahkan dari media, kemudian dicuci dengan PBS, dan ditambah 100 µL MTT ke setiap sumuran. Kemudian dilakukan inkubasi sel lagi selama 4 jam hingga kristal formazan terbentuk, setelah itu ditambahkan SDS 10% dalam 0,01 N HCl sebanyak 100 µL. Diinkubasi selama satu malam di tempat gelap pada suhu kamar. Nilai absorbansi masing-masing sumuran dibaca menggunakan *ELISA reader* dengan $\lambda = 550$ nm. Analisis hasil uji sitotoksik dilakukan dengan cara menghitung persentase sel hidup yang didapat dari data absorbansi. Rumus perhitungan sel hidup yang digunakan adalah:

$$\% \text{ Sel Hidup} = \frac{\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

Setelah itu dicari nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50%*) yang didapat dari regresi linear antara % rata-rata sel hidup vs log konsentrasi sampel kemudian pada persamaan regresi linier ($Y = BX + A$) nilai Y dimasukkan 50%, nilai antilog x yang didapat merupakan nilai IC₅₀.

2.3.3 Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak etanol daun dan akar beluntas ditotolkan pada *plate silica gel GF₂₄₅*, dan dielusi dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (7:3), jarak pengembangan 7,5 cm. Hasil elusi diamati di bawah sinar UV 366 nm dan visibel. *Plate silica* yang telah kering disemprot dengan, sitroborat, Dragendorff, dan FeCl₃ untuk mendeteksi adanya senyawa golongan tanin, alkaloid dan flavonoid.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

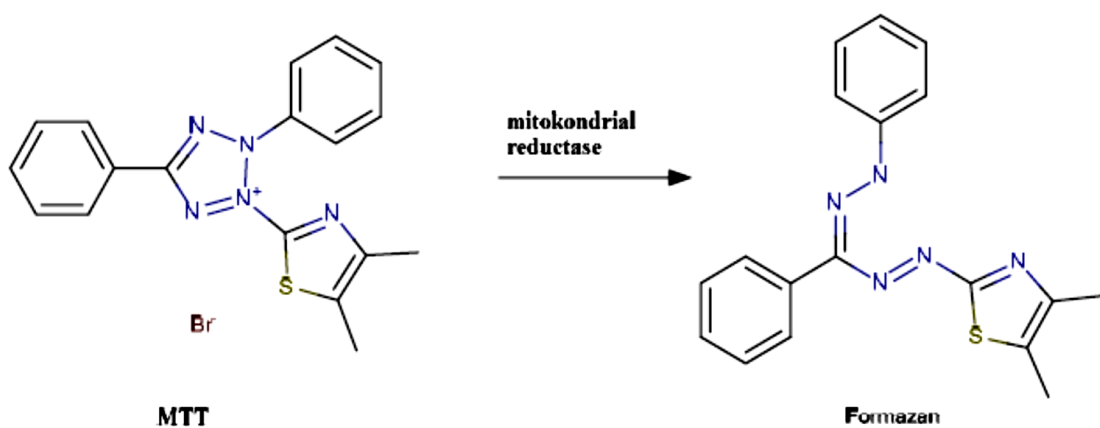
3.1 Ekstraksi Daun dan Akar Beluntas

Daun dan akar beluntas diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara merendam material dalam pelarut. Maserasi dipilih sebab metode ekstraksi ini

sederhana, mudah dilakukan, dapat mengekstraksi dalam jumlah yang cukup banyak, menghasilkan rendemen yang baik, dan tidak banyak gangguan fisik (Saifudin, 2014). Pelarut dalam ekstraksi ini adalah alkohol 96%, etanol dipilih karena merupakan pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya. Pada penelitian ini, didapat rendemen ekstrak etanol daun dan akar beluntas, berturut-turut, yaitu 4,11% dan 4,08%.

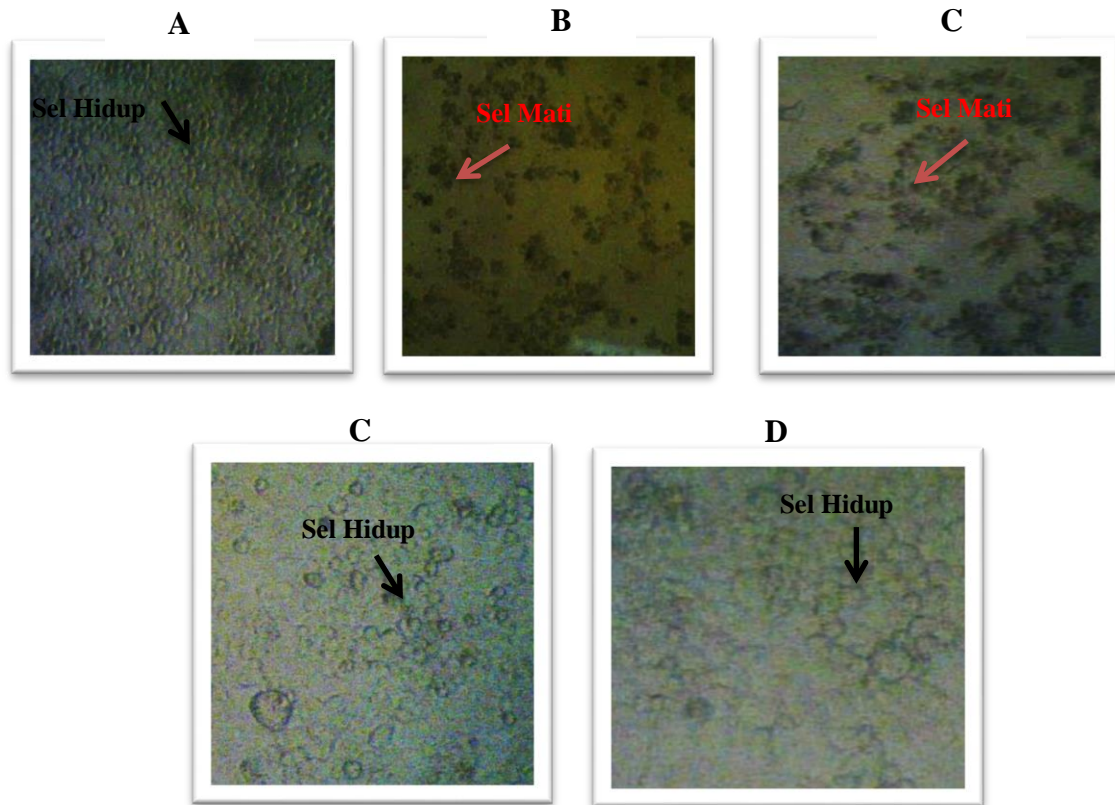
3.2 Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun dan Akar Beluntas

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun dan akar beluntas terhadap sel kanker kolon WiDr dengan metode MTT Assay. Dasar dari metode MTT Assay adalah terbentuknya kristal formazan dari reaksi pecahnya garam tetrazolium dari reagen MTT oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat dalam mitokondria sel hidup (Doyle & Griffith, 2000). Kristal formazan merupakan kristal berwarna ungu yang tidak larut dalam air namun larut dalam SDS 10% dalam HCL 0,01 N. Enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel hidup akan mengubah reagen MTT yang berwarna kuning dan larut air menjadi kristal formazan berwarna ungu yang tidak larut air (Gambar 1).

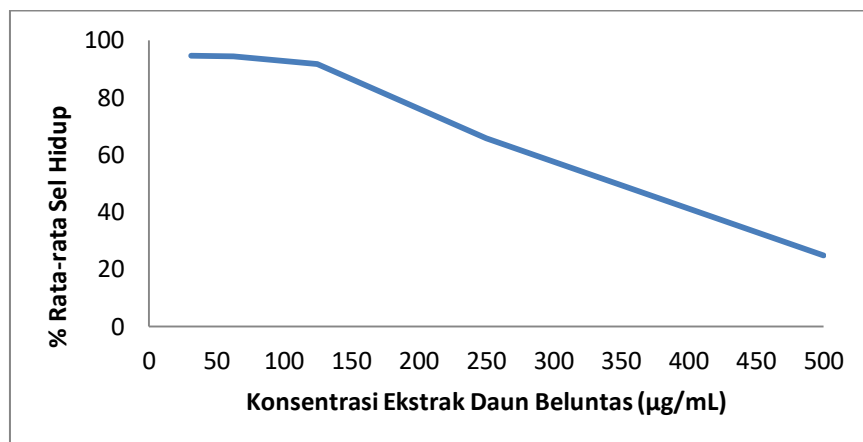


Gambar 1 Reaksi reduksi garam tetrazolium pada MTT menghasilkan kristal formazan

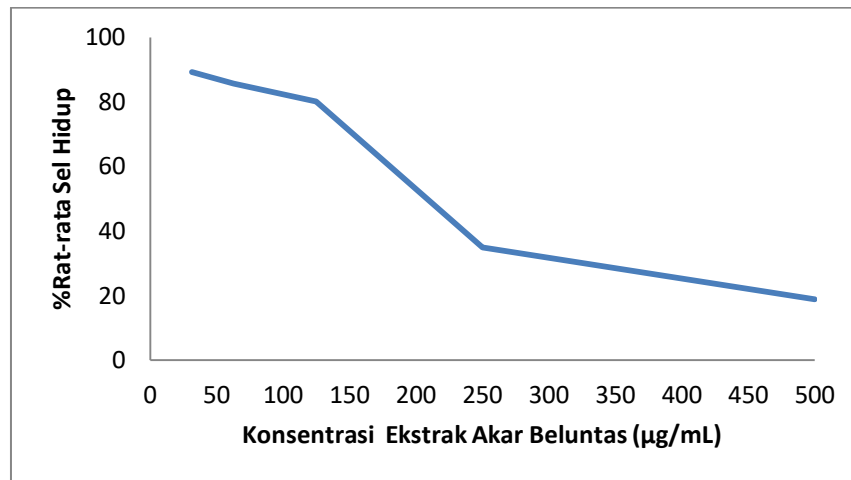
Pengamatan mikroskopis menunjukkan sel WiDr yang hidup dan belum diberi perlakuan, memiliki bentuk bulat cembung sedangkan sel WiDr yang mati memiliki bentuk sel poligonal dan cekung. Sel yang masih hidup setelah diberi perlakuan dengan ekstrak, memiliki bentuk yang bulat namun tidak secembung sel yang belum diberi perlakuan Gambar 2



Gambar 2 Morfologi sel WiDr, Kontrol sel WiDr(a), sel WiDr setelah pemberian ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 500µg/mL (b), sel WiDr setelah pemberian ekstrak etanol akar beluntas dengan konsentrasi 500µg/mL (c), sel WiDr setelah diberi ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 31,25µg/mL (d), sel WiDr setelah pemberian ekstrak etanol akar beluntas dengan konsentrasi 31,25µg/mL (e)



Gambar 3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Beluntas terhadap Sel WiDr



Gambar 4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Akar Beluntas terhadap Sel WiDr

Tabel 1 Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Beluntas terhadap Sel WiDr

Konsentrasi Ekstrak (µg/mL)	% Rata-rata Sel	Persamaan Regresi Linear (% Rata-rata Sel Hidup vs Log Konsentrasi Sampel)	IC ₅₀ (µg/mL)
500	24,793	$y = -55,795x + 191,18$ $R^2 = 0,7769$ $r = 0,8814$	339,84
250	65,743		
125	91,593		
62,5	94,304		
31,25	94,493		

Tabel 2 Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Akar Beluntas terhadap Sel WiDr

Konsentrasi Ekstrak (µg/mL)	% Rata-rata Sel Hidup	Persamaan Regresi Linear (% Rata-rata Sel Hidup vs Log Konsentrasi Sampel)	IC ₅₀ (µg/mL)
500	18,779	$y = -63,74x + 195,46$ $R^2 = 0,8684$ $r = 0,9319$	191,42
250	34,972		
125	80,160		
62,5	85,773		
31,25	89,317		

Aktivitas potensi sitotoksik pada sel kanker WiDr dilakukan dengan menghitung nilai IC₅₀. Setelah dilakukan uji sitotoksik dengan *MTT Assay*, dibaca nilai absorbansi dari kompleks berwarna ungu hasil dari pembentukan kristal ungu formazan, menggunakan *ELISA reader* dengan $\lambda = 550-600$ nm kemudian dihitung persentase sel hidup dan dianalisis dengan regresi linear antara log konsentrasi sampel vs % rata-rata sel hidup sehingga didapatkan nilai IC₅₀. Konsentrasi sampel dibuat log agar mendapatkan persamaan yang lebih linear (Haryoto *et al.*, 2013). Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol daun dan akar beluntas terhadap sel kanker WiDr, terjadi fenomena *dose*

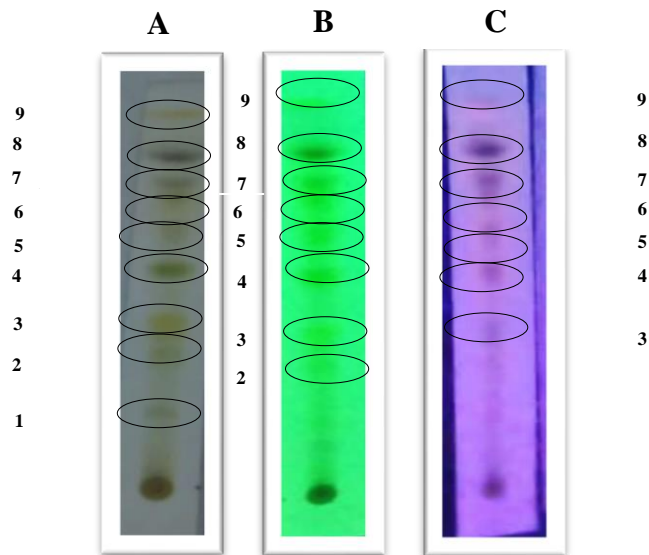
dependent, yaitu meningkatnya konsentrasi sampel, persentase sel kanker yang hidup akan semakin menurun (Gambar 3 dan Gambar 4) .

IC₅₀ yang diperoleh ekstrak etanol daun beluntas adalah 339,84 µg/mL (Tabel 1) dan ekstrak etanol akar beluntas memiliki nilai IC₅₀ sebesar 191,42 µg/mL (Tabel 2). IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi yang dapat menghambat proliferasi sel sebesar 50%, nilai ini juga menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai IC₅₀, semakin tidak toksik senyawa tersebut terhadap sel (Haryoto *et al.*, 2013). Suatu ekstrak dinyatakan memiliki potensi sitotoksik bila nilai IC₅₀-nya kurang dari 30 µg/mL, dikatakan moderat sitotoksik jika IC₅₀ 30-100 µg/mL, dan dikatakan tidak memiliki aktivitas sitotoksik bila nilai IC₅₀ lebih dari 100 (*National Cancer Institute* dalam Rahmawati *et al.*, 2013).

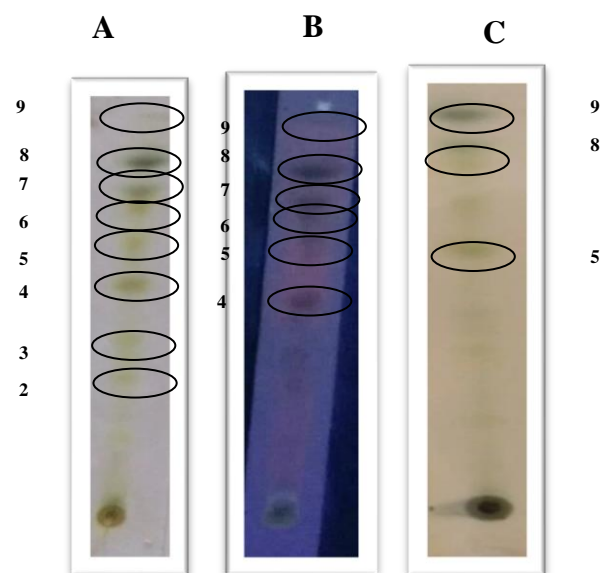
Hasil uji sitotoksik ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan akar beluntas memiliki aktivitas sitotoksik yang rendah terhadap sel kanker kolon WiDr. Sebelumnya telah dilakukan penelitian ekstrak etanol daun beluntas terhadap sel T47D, dan didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 727,3 µg/mL (Widyaratna, 2016). Berbeda dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, diklorometana, dan metanol dari daun beluntas memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial terhadap sel kanker leher rahim (sel HeLa) dengan IC₅₀ berturut-turut sebesar 18,06, 74,56, dan 31,31 µg/ml (Puspitasari *et al.*, 2015). Penelitian lain menyatakan bahwa fraksi heksana dari akar beluntas mampu menekan proliferasi dari sel kanker otak dengan menginduksi penahanan siklus sel dan autofagi (Cho *et al.*, 2017). Ekstrak etanol akar beluntas memiliki efek antikanker yang kuat melawan NPC (*human nasopharyngeal carcinoma cells*) secara *in vitro* (Kao *et al.*, 2015).

3.3 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis

Setelah mengetahui aktivitas dari ekstrak etanol daun dan akar beluntas, dilakukan analisis secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam kedua ekstrak. Setelah dilakukan orientasi fase gerak, fase gerak yang digunakan untuk KLT adalah heksana : etil asetat (7:3) dan fase diam adalah silika GF254 dengan jarak pengembangan 8 cm. Untuk deteksi kandungan fitokimia dari kedua ekstrak, dilakukan penyemprotan dengan reagen semprot. Reagen yang dipakai adalah Dragendorff, FeCl₃, dan Sitroborat. Reagen Dragendorff digunakan untuk deteksi golongan senyawa alkaloid. Visualisasi ditandai dengan adanya bercak jingga kecokelatan yang dilihat di sinar tampak. Kemudian, reagen FeCl₃ digunakan untuk identifikasi golongan senyawa tanin, adanya bercak abu-abu hingga biru yang teramati dengan sinar tampak menunjukkan adanya golongan senyawa tanin. Reagen semprot sitroborat dipakai untuk visualisasi senyawa golongan flavonoid, ditandai dengan adanya bercak hijau-kekuningan yang teramati di UV 366 nm (Saifudin, 2014).



Gambar 5 KLT ekstrak etanol daun beluntas dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (7:3) dilihat di (a) sinar tampak, (b) sinar UV 254 nm,dan (c) sinar UV 366 nm



Gambar 6 KLT ekstrak etanol daun beluntas dengan Fase Gerak n-Heksana:Etil Asetat (7:3) yang diberi reagen semprot (a) Dragendorff, (b) sitroborat, dan (c) FeCl_3

Setelah sampel dielusi menggunakan fase gerak dan fase diam, sampel ekstrak daun beluntas menunjukkan adanya sembilan bercak, dilihat di sinar tampak, kemudian terjadi pepadaman silika di bawah sinar UV 254 nm, dan tidak ada fluoresensi saat dilihat di bawah sinar UV 366 nm (Gambar 5). Sampel ekstrak akar berluntas hanya menunjukkan fluoresensi bercak yang jelas di UV 366 nm, yaitu sebanyak 2 bercak (Gambar 7). Pepadaman silika di bawah sinar UV 254 nm menunjukkan

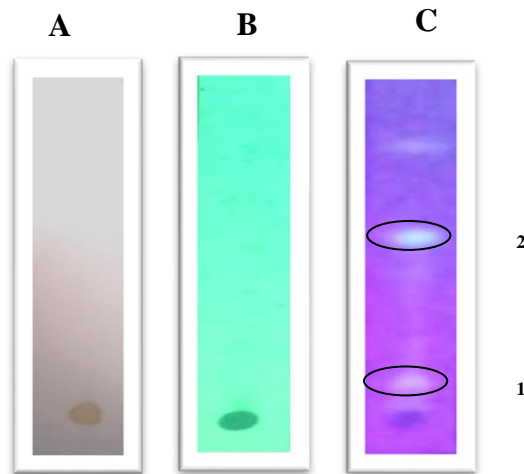
bahwa terdapat senyawa yang memiliki gugus kromofor. Fluoresensi bercak pada lampu UV 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada senyawa pada bercak tersebut. Fluoresensi terjadi karena adanya radiasi elektromagnetik yang menyediakan energi untuk membawa transisi elektronik dari *ground state* ke tingkat eksitasi *singlet state*, setelah tereksitasi elektron kembali ke *ground state* dan memancarkan energi. Fluoresensi bercak dapat terlihat pada lampu UV 366 karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Wulandari, 2011).

Tabel 3 Hasil KLT ekstrak etanol daun beluntas dengan fase gerak n-heksana:etil asetat 7:3

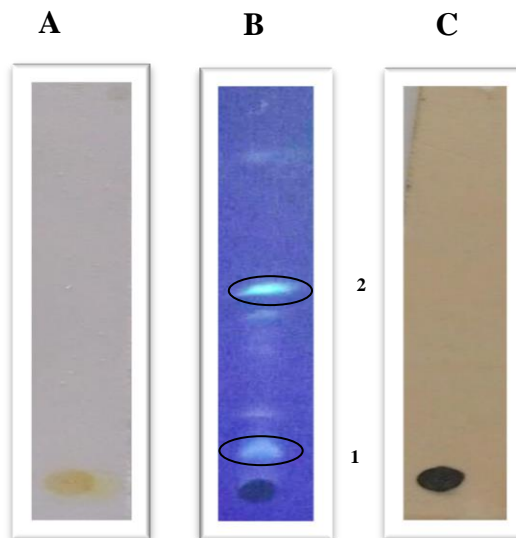
Bercak	R_f	Sebelum Disemprot Reagen			Dragendorff	Sitroborat	FeCl ₃	Senyawa
		Sinar Tampak	UV 254	UV 366	Sinar Tampak	UV 366	Sinar Tampak	
1	0,16	Cokelat muda	-	-	-	-	-	
2	0,31	Cokelat-hijau	Pemadaman	-	Kuning muda	-	-	
3	0,37	Cokelat-krem	Pemadaman	-	Hijau muda	-	-	
4	0,4	Kuning	Pemadaman	-	Hijau muda	-	-	
5	0,53	Hijau	Pemadaman	-	Cokelat	-	Kuning	Alkaloid
6	0,65	Kuning muda	Pemadaman	-	Kuning	-	-	
7	0,75	Kuning-cokelat	Pemadaman	-	Hijau-kuning	-	-	
8	0,77	Cokelat hitam	Pemadaman	-	Hijau hitam	-	Hitam	Tanin
9	0,85	hitam	Pemadaman	-	Hijau-hitam	-	Hitam	Tanin

Tabel 4 Hasil KLT ekstrak etanol akar beluntas dengan fase gerak n-heksana:etil asetat 7:3

Bercak	R_f	Sebelum Disemprot Reagen			Dragendorff	Sitroborat	FeCl ₃	Senyawa
		Sinar Tampak	UV 254	UV 366	Sinar Tampak	UV 366	Sinar Tampak	
1	0,12	-	-	Fluoresensi biru	-	Fluoresensi biru	-	
2	0,75	-	-	Fluoresensi hijau	-	Fluoresensi hijau	-	Flavonoid



Gambar 7 KLT ekstrak etanol akar beluntas dengan fase gerak n-heksana:etil asetat 7:3 dilihat di (a) sinar tampak, (b) sinar UV 254 nm, dan (c) sinar UV 366 nm



Gambar 8 KLT ekstrak etanol akar dengan Fase Gerak n-Heksana:Etil Asetat 7:3 yang diberi reagen semprot (a) Dragendorff, (b) sitroborat, dan (c) FeCl_3

Hasil uji kualitatif daun beluntas menggunakan KLT setelah diberi reagen semprot Dragendorff, sitroborat dan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 6, hasil tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun beluntas terdapat golongan senyawa tanin dan alkaloid, ditunjukkan dengan adanya bercak coklat pada bercak dengan nilai faktor retensi (R_f) 0,53 setelah disemprot dengan Dragendorff, yang mengindikasikan adanya alkaloid. Kemudian setelah penyemprotan dengan reagen FeCl_3 , terdapat warna hitam pada R_f 0,77 dan 0,85, yang mengindikasikan adanya golongan tanin. Hasil dari penyemprotan sitroborat kemudian diamati di bawah sinar UV 366 nm, tidak terdapat warna hijau-kekuningan, sehingga senyawa flavonoid tidak teridentifikasi (Tabel 3). Hasil

uji kualitatif akar beluntas menggunakan KLT setelah diberi reagen semprot Dragendorff, sitroborat dan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 8. Ekstrak etanol akar beluntas hanya teridentifikasi golongan senyawa flavonoid, yang ditunjukkan dengan adanya warna hijau setelah penyemprotan dengan sitroborat dan visualisasi di bawah sinar UV 366 nm. Fluoresensi hijau terdapat pada bercak dengan R_f 0,75 (Tabel 4). Hasil penelitian KLT ekstrak etanol daun beluntas sebelumnya, menggunakan fase diam silika GF254 dan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3), menyatakan bahwa terdapat senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid pada ekstrak etanol daun beluntas (Widyaratna, 2016). Etanol adalah pelarut universal, yang kemungkinan senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, flavonoid, tanin, dan polifenol dapat tersari. Menurut Suriyaphan (2014), golongan senyawa yang mempunyai aktivitas sitotoksik adalah flavonoid, tanin dan alkaloid

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa data yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun dan akar beluntas (*Pluchea indica* (L.)) memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel WiDr dengan nilai IC_{50} ekstrak daun beluntas sebesar 191,42 $\mu\text{g/mL}$ dan pada akar beluntas 191,42 $\mu\text{g/mL}$. Golongan senyawa kimia di dalam ekstrak etanol daun beluntas adalah tanin dan alkaloid, sedangkan ekstrak etanol akar beluntas hanya flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Cho C.-L., Lee Y.-Z., Tseng C.-N., Cho J., Cheng Y.-B., Wang K.-W., Chen H.-J., Chiou S.-J., Chou C.-H. and Hong Y.-R., 2017, Hexane fraction of *pluchea indica* root extract inhibits proliferation and induces autophagy in human glioblastoma cells, *Biomedical Reports*, 7 (5), 416–422.
- Doyle, A., & Griffith, S. J. B, 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, John Willey and Sons Ltd, New York.
- Global Cancer Observatory, 2018, Population Fact Sheet: Indonesia, Terdapat di <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf> [Diakses pada 21 Januari 2019]
- Haryoto H., Muhtadi M., Indrayudha P., Azizah T. and Suhendi A., 2013, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D, dan WiDr, *Jurnal Penelitian Saintek*, 18 (2), 21–28.
- Kao C.-L., Cho J., Lee Y.-Z., Cheng Y.-B., Chien C.-Y., Hwang C.-F., Hong Y.-R., Tseng C.-N. and Cho C.-L., 2015, Ethanolic Extracts of *Pluchea indica* Induce Apoptosis and Antiproliferation Effects in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells, *Molecules*, 20 (6), 11508–11523. Terdapat di: <http://www.mdpi.com/1420-3049/20/6/11508/>.
- NCCN, 2016, Colon Cancer, NCCN Foundation, Amerika.
- Puspitasari E., Agustina B. and Umayah E., 2015, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak n-Heksana, Diklorometana, dan Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) terhadap Sel Kanker

- Leher Rahim (HeLa), *Journal Of Pharmaceutical Science And Pharmacy Practice*, 2 (1), 41–45.
- Rahmawati E., Sukardiman S. and Muti A.F., 2013, Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Media Farmasi*, 10 (2), 47–55.
- Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L. and Zhang L., 2003, Flavonoids: Promising anticancer agents, *Medicinal Research Reviews*, 23 (4), 519–534.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder (Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian)*, Deepublish, Yogyakarta.
- Suriyaphan O., 2014, Nutrition, Health Benefits and Applications of *Pluchea indica* (L.) Less Leaves, *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41 (4), 1–10.
- Widyaratna A., 2016, *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Beluntas (Pluchea indica L.), Ciplukan (Physalis angulata L.), dan Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) Terhadap Sel T47D*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wulandari L., 2011, *Kromatografi Lapis Tipis*, Taman Kampus Presindo, Jember.